

6. Матвеев С.Б., Пахомова Г.В., Кифус Ф.В., Голиков П.П. Окислительный стресс при открытой абдоминальной травме с массивной кровопотерей // Клинич. лаб. диагностика, 2005, №1, С.14-16.

7. Цибулевский А.Ю., Дубовая Т.К., Соколинский Б.З., Медовый В.С., Пятницкий А.М. Состояние эритроцитов интактных и ваготомированных крыс различного возраста после массивной кровопотери // Российский физиологический журнал.- 2009.- №2.- С.129-136.

8. Цибулевский А.Ю., Древаль А.А., Князева Л.А., Чжан Юань. Особенности ответной реакции эритроцитов крыс различного возраста на острую кровопотерю // Морфология.- 2010. - №4. – С.208.

9. Revin VV, Gromova NV, Revina ES. et al. Role of Membrane Lipids in the Regulation of Erythrocytic Oxygen-Transport Function in Cardiovascular Diseases // Biomed Res Int. 2016;2016:3429604. Epub 2016 Oct 30.

10. Ribon A, Pialoux V, Saugy J. et al. Exposure to hypobaric hypoxia results in higher oxidative stress compared to normobaric hypoxia // Respir Physiol Neurobiol. 2016 Mar;223:23-7. doi: 10.1016/j.resp.2015.12.008.

ЭКСПРЕССИЯ КАЛЬБИНДИНА ВО ФРОНТАЛЬНОЙ И ТЕМЕННОЙ КОРЕ МОЗГА КРЫС ПРИ ХОЛЕСТАЗЕ

Емельянчик С.В.,¹ Зиматкин С.М.²

¹ - Гродненский государственный университет имени Янки Купалы

² - Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Введение. Застой желчи в желчевыводящих путях, нарушение её отток из печени в 12-перстную кишку (холестаз) в результате различной патологии гепатобилиарной системы распространён в современном обществе. Такое состояние приводит к значительным нарушениям структуры и функций головного мозга [1].

Изучение систем обмена кальция в клетке является актуальным и перспективным направлением, поскольку установление процессов регуляции жизнедеятельности позволяет вносить коррекции посредством фармакологических средств. Для исследования системы внутриклеточного гомеостаза кальция выявляют белок с кальциевым буфером – кальбиндин-, и кальций-АТФазу плазматической мембраны (PMCA1) [5].

Экспрессия белка кальбиндина в нейронах коры головного мозга у крыс при холестазе не изучена.

Цель исследования – иммуногистохимическими методами установить содержание белка кальбиндина в нейронах фронтальной и

теменной долей головного мозга крыс в различные сроки после перевязки общего желчного протока.

Методы исследования. В работе использован материал от 36 беспородных белых крыс-самцов массой 200 ± 25 г. На проведение данных исследований получено разрешение этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 1, от 11.01.2017). Крысам контрольной группы проводили ложную операцию, т.е. желчный проток не перевязывали. Опытным животным производили перевязку общего жёлчного протока на 3-5 мм ниже слияния долевых протоков двумя лигатурами с последующим пересечением между ними. Через 2, 5, 10, 20, 45 и 90 суток в утренние часы (для синхронизации по времени) животных выводили из эксперимента декапитацией. Извлекали головной мозг, для получения сопоставимых результатов кусочки коры фронтальной и теменной долей животных обрабатывали в одинаковых условиях. Их фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 20 часов, а затем заключали в парафин. Стандартные парафиновые срезы толщиной 7 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия) и монтировали на предметные стекла.

Для иммуногистохимического выявления белка кальбиндина D28k применяли первичные поликлональные кроличьи антитела фирмы Abcam (Великобритания, ab. 11426) в разведении 1:1200 при $+4^{\circ}\text{C}$, экспозиция 20 ч, во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80437 для кроличьих антител).

Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 6 для Windows. Достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$ (Mann-Whitney U-test).

Результаты и их обсуждение. Иммуногистохимическая реакция на белок кальбиндин показала во многих нейронах всех слоев коры мозга продукты реакции в виде отдельных темных образований расположенных по всему перикариону и видимых участках отростков. В нейронах разных отделов и слоев коры полушарий в в норме и различные сроки холестаза выявлена гетерогенность – по-разному происходит экспрессия белка кальбиндина: более высокая иммунореактивность исследуемого

белка отмечена в нейронах фронтально коры, несколько менее – в теменной. Реакции на антитела к белку кальбиндину зависят от слоя и положения в слое коры, что согласуется с данными авторов, показавшими экспрессию данного белка в перегородке (septum) и поясной коре (cingulate cortex) мозга морских свинок максимальную иммунореактивность определена в глубоких слоях поясной коры (5слой), менее – в более поверхностных – 2-3 слоях коры [3]. Сходная картина в нашем исследовании – наименьшая активность во втором слое нейронов коры мозга, наибольшая – в пятом.

При 2 суточном холестазае во втором слое коры происходит снижение экспрессии данного белка на 6,0% ($p=0,001$), в третьем слое некоторое снижение, но не достоверное, и в пятом снижение на 6,8% ($p=0,013$). На пятые сутки происходит увеличение экспрессии данного белка на 5,7% ($p=0,002$) только в третьем слое коры. На 10 сутки во втором слое нейронов происходит увеличение экспрессии на 10,5% ($p=0,003$), в третьем – на 10,9% ($p=0,000$) и в пятом – на 7,3% ($p=0,010$). На 20-е сутки во втором слое нейронов происходит увеличение экспрессии на 26,1% ($p=0,000$), в третьем – на 17,1% ($p=0,000$) и в пятом – на 7,7% ($p=0,019$). На 45 и 90 сутки после перевязки протока не определено различия в контроле и опыте в нейронах во всех слоях коры.

При иммуногистохимическом выявлении белка кальбиндина в теменной коре картина аналогичная. При 2-х суточном холестазае происходит снижение экспрессии данного белка на 4,0% ($p=0,009$), в третьем слое некоторое снижение, но не достоверное, и в пятом снижение на 6,7% ($p=0,004$). На пятые сутки во втором слое нейронов различия не отмечено, в третьем увеличение экспрессии на 10,4% ($p=0,000$) и в пятом увеличение на 4,4% ($p=0,017$). После 10-ти суток холестаза во втором слое нейронов различия не отмечено, в третьем увеличение экспрессии на 12,9% ($p=0,000$) и в пятом увеличение на 7,3% ($p=0,027$). Спустя 20 суток во втором слое нейронов отмечено увеличение экспрессии на 7,8% ($p=0,001$), в третьем увеличение экспрессии на 15,4% ($p=0,000$) и в пятом увеличение на 14,3% ($p=0,000$). Через 45 суток после перевязки протока во втором и третьем слоях нейронов различия не определено, в пятом увеличение на 3,9% ($Z= -2,53$; $p=0,012$). После 90 суток во всех слоях отличий опыта от контроля нет.

Таким образом, установление причинно-следственных закономерностей нарушения содержания кальбиндина в нейронах

коры мозга при холестазае имеет перспективу в плане коррекции выявленных нарушений кальциевого обмена в клетках. Поскольку тонкие механизмы таких нарушений до конца не выявлены [2; 4].

Выводы. Перевязка общего желчного протока у крыс приводит к снижению иммунореактивности кальбиндина в нейронах коры мозга через 2-е суток после операции, затем, на 5-20 сутки (по мере нарастания холестаза) происходит её повышение (более выраженное в лобной коре), а у выживших животных (после самопроизвольного устранения холестаза) в отдаленные сроки (45-90 суток), этот показатель постепенно нормализуется.

Литература

1. Емельянчик С.В., Зиматкин С.М. Мозг при холестазае. Гродно: ГрГУ, 2011. – 265 с.
2. Aghaei I.M., Nazeri M., Shabani A. Erythropoietin ameliorates the motor and cognitive function impairments in a rat model of hepatic cirrhosis // *Metab. Brain Dis.* – 2015. – Vol. 30, № 1. – P. 197–204.
3. Hermanowicz-Sobieraj B.K., Bogus-Nowakowska A. Calcium-binding proteins expression in the septum and cingulate cortex of the adult guinea pig // *Ann. Anat.* – 2018. – Vol. 215. – P. 30–39.
4. Leke R. et al. Impairment of short term memory in rats with hepatic encephalopathy due to bile duct ligation // *Metab. Brain Dis.* – 2013. – Vol. 28, № 2. – P. 187–192.
5. Piccolini V.M., Bottiroli G., De Pascali S.A. et al. Platinum drugs and neurotoxicity: effects on intracellular calcium homeostasis // *Cell. Biol. Toxicol.* – 2013. – Vol. 29, № 5. – P. 339–353.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА 45- СУТОЧНОГО ПОТОМСТВА КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ ЭТАНОЛ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Заерко А.В., Федина Е.М., Зиматкин С.М.

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь (wersall_91@mail.ru)

Актуальность. Множественные и разнообразные эффекты этилового спирта на центральную нервную систему не оставляют сомнений о влиянии его на функции основных нейромедиаторных систем. В этом отношении особый интерес представляет гистаминергическая система мозга, поскольку пути метаболизма